植物病理學會刊　12:191-198, 2003

宜蘭四季蔥感染分蔥潛隱病毒之發生調查與植株感染後之影響評估

鄧汀欽[1]　廖吉彥[1]　楊宏瑛[2,3]

1 台中縣霧峰鄉 行政院農業委員會農業試驗所植物病理組
2 宜蘭縣三星鄉 行政院農業委員會花蓮區農業改良場蘭陽分場
3 聯絡作者：電子郵件 hdais033@mail.hdais.gov.tw，傳眞：+886-4-9899313
接受日期：中華民國92 年8 月13 日

摘　要

鄧汀欽、廖吉彥、楊宏瑛 2003. 宜蘭四季蔥感染分蔥潛隱病毒之發生調查與植株感染後之影響評估. 植病會刊12:191-198.

利用免疫酵素分析 (ELISA) 檢測分蔥潛隱病毒 (*Shallot latent virus*, SLV) 在感染的蔥株組織中的分佈情形，無論是從葉或花薹取樣，其ELISA 反應值均明顯大於對照組，雖然植株間反應值有所差異，但同一株的不同分櫱之間的差異都不顯著，而花薹的反應值則顯著高於葉部，顯示SLV 在蔥株不同組織內之濃度雖有高低差別，但其分佈仍屬均匀，取樣調查時不會因採樣部位之不同而獲致不同的結論。調查宜蘭縣三星、員山、五結、壯圍及宜蘭等鄉鎭共81 處蔥田，每處蔥田系統性劃分成 16 個採樣點，每個採樣點進行封包採樣 (hierarchical sampling) [8]，再以群體測試 (grouping test) 進行ELISA，檢測SLV 之發生，結果在1296 個檢體中，SLV 之檢出率平均為 60.7%，分別為 63.7% (三星鄉)、64.1% (員山鄉)、90.7% (五結鄉)、70.7% (壯圍鄉) 及 33.3% (宜蘭市)，其中有12 處取樣田區其檢出率為0。初次未測得SLV 感染之蔥田分別經重複檢測及隔年追蹤調查，仍有2 處無發生SLV，可供作健康蔥苗分株採種之用。未經病毒檢定之母株經組織培養後，其成株經檢測其SLV 的發生率為 16-41%，而經病毒檢定後之母株其組織培養苗在移植於田間二個半月後，僅有 21.4% 遭到SLV 感染。利用健康蔥苗在宜蘭進行進行產量試驗，並以感染 SLV 的四季蔥作為對照，結果在株高、單株重及莖粗均顯著 (P=0.05) 較感染SLV 的四季蔥為佳。

關鍵詞：四季蔥、分蔥潛隱病毒、免疫酵素分析、發生率、封包採樣、種苗

緒　言

青蔥 (*Allium fistulosum* L.) 為台灣重要蔬菜作物之一，宜蘭縣年栽培面積約 500 公頃，主要以產值高的四季蔥為主。惟四季蔥低溫需求值較高，不易開花，以致於採收種子困難，因此經濟栽培時，四季蔥繁殖方法侷限於分株繁殖。但經長期分株繁殖，部分蔥株發生類似病毒感染的現象，造成其分株後代生長勢退化，影響蔥的品質與產量 [1]。在台灣青蔥中所分離出來的病毒計有三種：韭蔥黃條斑紋病毒 (*Leek yellow stripe virus*, LYSV)、洋蔥黃萎病毒 (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV)、及分蔥潛隱病毒 (*Shallot latent virus*, SLV) [3,4,14]。前二者屬 *Potyvirus*，感染蔥株後，葉部會有明顯病徵，分株繁殖時即可目視淘汰，因此發生繼代感染的現象較少。但SLV 屬 *Carlavirus*，其感染蔥是潛隱性的，植株外部病徵顯現不穩定，難以目視判斷病情，因此無性繁殖的四季蔥普遍發生SLV 潛伏感染的現象，一旦以感染的分株移苗種於本田，立即成為初次感染源 (primary inoculum)。在田間SLV 尚可經由蚜蟲傳播而造成株間感染，若SLV 複合感染其他病毒，蔥株則呈現明顯的病徵，造成質與量的嚴重經濟損失 [5,13]。

為明瞭 SLV 在宜蘭地區的疫情，本研究採用系統取樣法 (systematic sampling) [6,7,10,11] 全面調查宜蘭縣內各鄉鎭之四季蔥田，取回的樣本在實驗室內，以群體測試 (grouping test) [8,11] 進行免疫酵素分析 (ELISA)，以期發現無病毒感染的四季蔥田，供健康蔥苗分株採種，並利用健康蔥苗進行產量試驗，評估SLV 所造成的損失及健康種苗的防治效益。

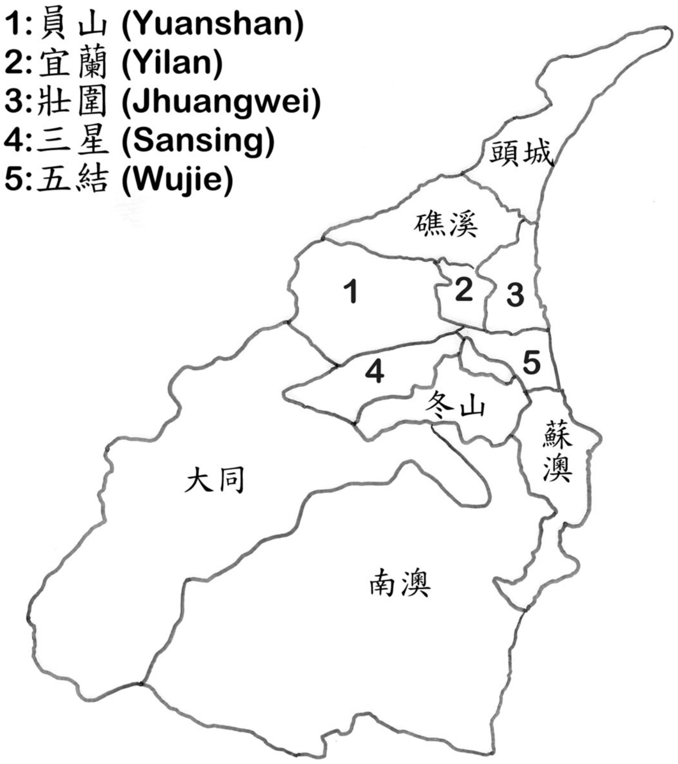
材料與方法

一、蔥株內SLV之分佈與採樣機差檢測

以分蔥潛隱病毒臺灣青蔥分離株(SLV-WOtw)[2,14] 接種青蔥實生苗，經確認感染後，蔥株保存於網室中培養至分櫱抽薹，共有3棵供試蔥株，每株分別有7、5、11分櫱，剝取每一分櫱的葉或花莖，以10倍量附著緩衝液(coating buffer)萃取組織液，進行間接法免疫酵素分析(indirect ELISA)[9]，供試抗體爲SLV-WOtw的同源抗血清，其反應條件如楊氏等[1]報告所述。陽性反應對照組(＋CK)取自SLV-WOtw接種感染之*Chenopodium quinoa* Willd.葉片，陰性反應對照組(－CK)爲健康之蔥株葉片。每一檢體各有二重複，反應後取其ELISA值之平均，比較SLV在全株各部組織中之分佈，並計算同一株不同部位取樣的標準機差(standard deviation)。

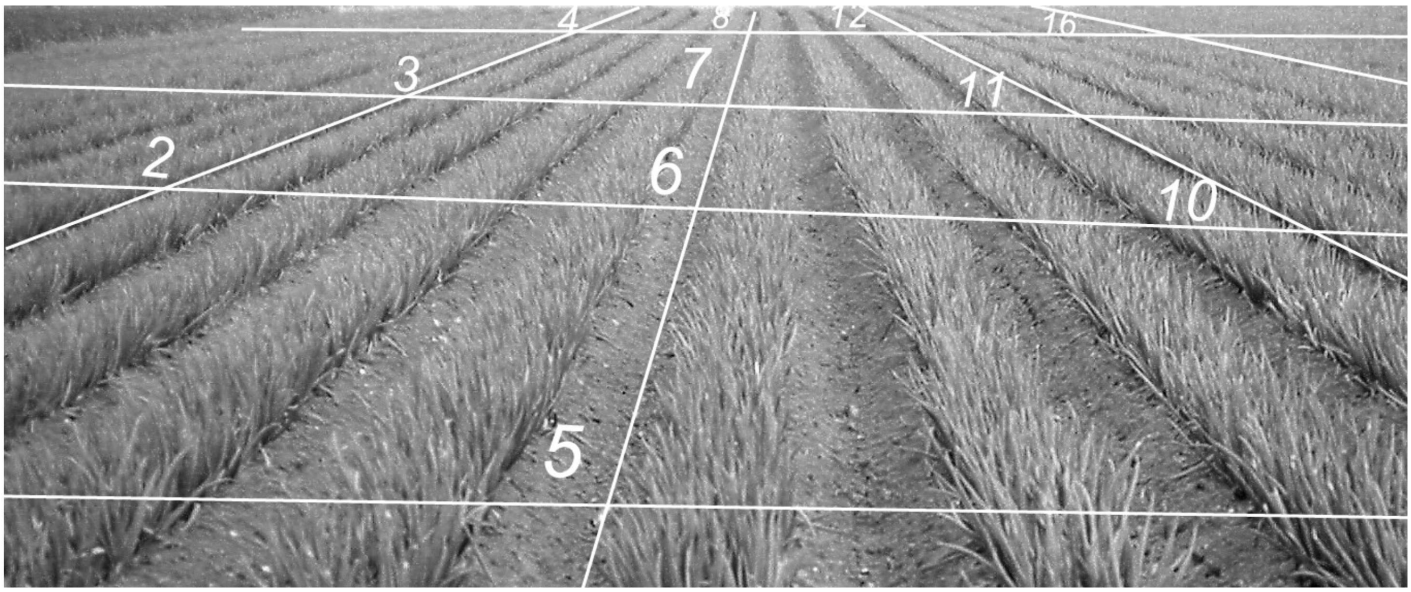
二、田間病毒發生調查

宜蘭縣四季蔥病毒發生調查以青蔥產地員山、宜蘭、壯圍、三星、及五結各鄉鎮爲主，其地理位置如圖一，以村里爲單位，每村里栽培面積1-5公頃者採樣1區，6-10公頃者採樣2區，11-15公頃者採樣3區，16-20公頃者採樣4區，25-30公頃者採樣5區，30-35公頃者採樣6區，35-40公頃者採樣7區，每一採樣田區如圖二系統性平均畫分成16個採樣區塊(sampling plots)，每區啓始採樣點則逢機決定，每個採樣點進行封包採樣(hierarchical sampling)[7,8]，取前後左右(2×2)各蔥株的葉片，混合成一個檢體，每個檢體加入10倍量附著緩衝液磨取汁液，進行間接法ELISA病毒檢測。



圖一、宜蘭縣四季蔥病毒發生調查之採樣田區所在鄉鎮(1-5)位置。

Fig. 1. Location of townships (number 1-5) in Yilan County from which samples of green onion plants were assayed for *Shallot latent virus*.



圖二、採樣田區系統性平均畫分成16個採樣區塊之圖例。

Fig. 2. Example of systematic sampling field and 16 quadrats in this field.

經上述田間病毒發生調查結果為零發生率的四季蔥田，及部份供作採種圃的四季蔥田為供試材料，經系統取樣，再以間接法 ELISA 測定 SLV 之發生率。在 2000 年二月、2001 年五月及 2002 年六月分別各測定一次。

三、組織培養苗之病毒發生調查

未經病毒檢定之母株經莖頂組織培養後所繁殖的蔥苗[1]移植田間一個月後，取 88 株葉片樣本，同時對照保存於實驗室的瓶苗 38 株，以間接法 ELISA 方式檢測 SLV，估算供試樣本從 0 到 1.5 不同級數反應值 (ELISA value) 之發生頻率，檢測蔥株組織內的病毒濃度及族群中的 SLV 發生率。

經病毒檢定為 SLV-free 之母株其莖頂組織培養苗[1]移植種於田間，經二個半月後取成株葉片 187 個樣本，以間接法 ELISA 檢測 SLV 之發生率。

四、無病毒四季蔥與罹病毒病株之園藝性狀比較

將間接法 ELISA 確認為無 SLV 感染的蔥株移植於試驗田，另選定有 SLV 感染之四季蔥作為對照進行生育調查與試驗，評估 SLV 所造成的損失及觀察栽培無病毒四季蔥的效益。試驗田採完全逢機設計，三重複，行株距 20×18 公分，小區面積 3.6 平方公尺，種植株數約 90 株。田間管理在整地前每分地施用有機質肥料 2 公噸、氮素 6 公斤、磷酐 10 公斤、氧化鉀 8 公斤。2000 年 9 月 19 日定植，定植後 20 日每週施追肥一次，每次施用氮素 10 公斤，共十二次；定植後 40 日，每隔 15 日施氧化鉀 4 公斤，共二次。病蟲害防治方法則參照植物病蟲害防治手冊。採收時每小區逢機採樣 30 株，調查項目包括：株高、蔥白長、分櫱數、單株重、及莖粗等。

結　果

一、青蔥植株中 SLV 分佈之檢測

分別由 3 青蔥植株分株出的 23 片葉或花薹組織，經 ELISA 測定 SLV 在植體反應結果如表一。在三重複中，無論是從葉片或花薹取樣之檢體，其 ELISA 反應值包含標準機差仍都大於對照組 (－CK) 三倍以上，可以明顯分辨陽性或陰性反應。雖然植株之間反應值有所差異，但花薹的反應值顯著大於葉部，惟同一株的不同分櫱之間的差異都不明顯，顯示 SLV 在蔥株不同組織內之濃度雖有高低差別，但其分佈仍屬均勻，取樣調查時不會因採樣部位之不同而獲致不同的結論。

二、田間病毒發生調查

從宜蘭縣三星、員山、五結、壯圍及宜蘭等鄉鎮 31 個村里中，依產四季蔥的栽培面積共規劃 81 個調查田區取樣，總共取樣 1296 個檢體 (如表二)，以 ELISA 反應值判定是否感染 SLV，結果指出全縣發生率平均為 60.7%，分別為 63.7% (三星鄉)、64.1% (員山鄉)、90.7% (五結鄉)、70.7% (壯圍鄉) 及 33.3% (宜蘭市)，但各取樣區的調查結果差異甚大，三星鄉人和村的不同取樣區，其 SLV 發生率有 0 與 100% 之別 (表二)。結果共有 12 處取樣區為零發生率，除壯圍鄉美福村一區以外，其餘皆位在三星鄉包括天福、人和、雙賢、萬德、萬富、尾塹等地的田區 (圖三)，更進一步於 2000、2001 及 2002 年進行後續病毒發生追蹤調查。結果如表三，2002 年六月之檢測結果仍發現有 2 處田區無檢出 SLV 感染，故將其篩選為健康四季蔥苗的分株採種圃。

表一、利用免疫酵素分析檢測分蔥潛隱病毒感染蔥株，植體反應平均值及標準機差

Table 1. Average and standard deviation of ELISA values derived from leaf and inflorescence tissues in tillers of SLV-infected green onions

Replication	Number of tillers	Leaf	Inflorescence
No. 1	7	0.413±0.171	0.689±0.170
No. 2	5	0.328±0.162	1.036±0.264
No. 3	11	0.237±0.108	0.453±0.174

ELISA values : ＋CK=1.787 , －CK=0.033

三、組織培養苗之病毒發生調查

未經病毒檢測的母株經組織培養後之蔥苗，其田間成株以 ELISA 檢測 SLV 反應結果，並將供試樣本中反應吸收值從 0 到 1.5 不同級數的發生頻率列如圖四。若以 ELISA 反應值小於 0.1 為陰性反應作標準，則田間樣本有 16% 感染 SLV，雖然田間已感染的樣本其植株的病毒濃度較高，而置於實驗室的瓶苗有 41% 是 SLV 病毒感染。經檢定為無 SLV 感染之組織培養苗移植田間，經二個半月後取成株葉片，以 ELISA 檢測 SLV 之反應，估算從 0 到 1.5 不同級數的反應吸收值之樣本發生頻率，結果如圖五。僅有 21.4% 感染 SLV 病毒，但無受檢樣本反應值超過 1.4，表示這些組織培養苗長成的族群中，SLV 感染的情況較輕且發生率較低。

四、無病毒四季蔥與罹病毒病株之園藝性狀比較

田間試驗期間恰逢連續豪雨，相對之日照時數僅 147 小時，致使植株生長較緩慢，調查無病毒與感染病毒四季蔥生育性狀之結果如表四：無病毒者株高 70.5 公分，顯著比感染病毒者高出 8.25 公分；蔥白長方面，無病毒者為 12.63 公分，感染病毒者為 12.5 公分，差異不顯著；分櫱數二者間差異不顯著；無病毒之單株重為 0.45 公斤，感染

表二、宜蘭縣四季蔥的分蔥潛隱病毒發生率

Table 2. Survey on the incidence of Shallot latent virus (SLV) in green onion fields in Yilan County

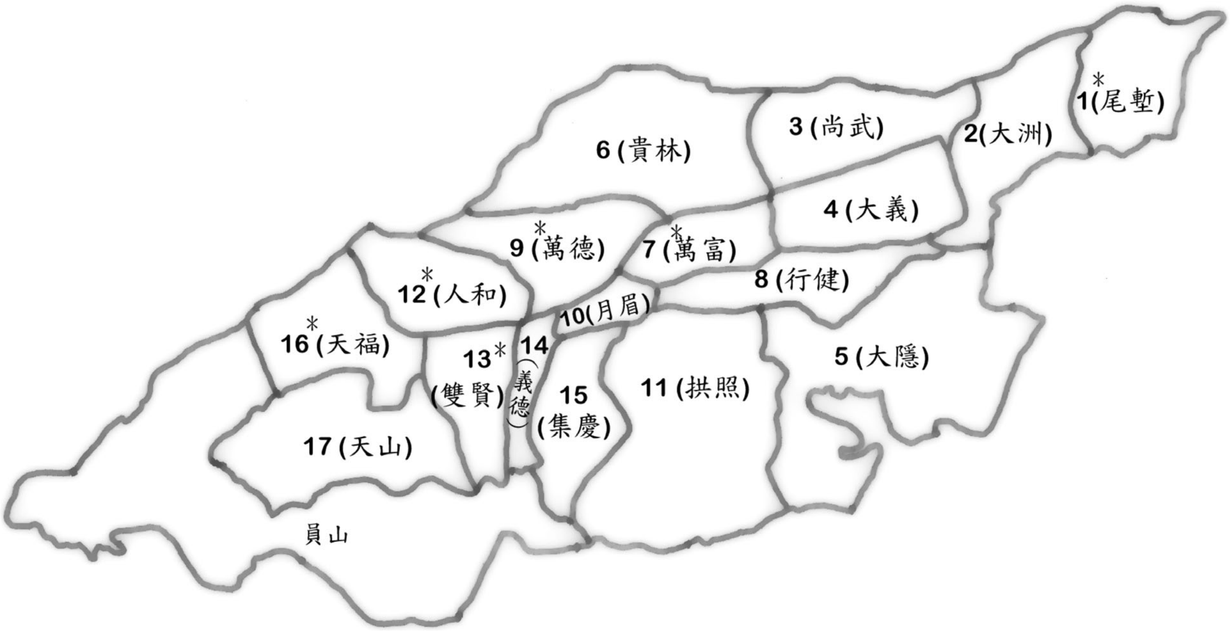
Township	Village	Number of sampling fields	SLV incidence in each sampling field (%) [1)]	Mean
Yuanshan	1 (惠好)	2	75.0, 81.3	78.1
(員山)	2 (七賢)	4	6.3, 43.8, 50.0, 100,	50.0
	3 (深溝)	4	12.5, 56.3, 93.8,93.8	64.1
Yilan	1 (建業)	2	6.3, 18.8	12.5
(宜蘭)	2 (南橋)	3	6.3, 25.0, 31.3	20.8
	3 (七張)	1	62.5	62.5
	4 (凱旋)	2	18.8, 56.3	37.5
Jhuangwei	1 (吉祥)	1	68.8	68.8
(壯圍)	2 (新南)	2	93.8, 100	96.9
	3 (美福)	2	0, 43.8	21.9
	4 (復興)	4	50.0, 87.5, 93.8, 100,	82.8
	5 (忠孝)	1	81.3	81.3
Sansing	1 (尾塹)	1	0	0.0
(三星)	2 (大洲)	5	18.8, 87.5, 93.8, 100, 100	80.0
	3 (尚武)	1	100	100.0
	4 (大義)	1	75.0	75.0
	5 (大隱)	1	100	100.0
	6 (貴林)	6	12.5, 31.3, 56.3, 56.3, 81.3, 93.8	55.2
	7 (萬富)	6	0, 75.0, 81.3, 93.8, 100, 100	75.0
	8 (行健)	3	75.0, 100, 100	91.7
	9 (萬德)	6	0, 0, 12.5, 18.8, 75.0, 75.0	30.2
	10 (月眉)	1	81.3	81.3
	11 (拱照)	2	56.3, 87.5	71.9
	12 (人和)	7	0, 0, 50.0, 50.0, 75.0, 93.8, 100	52.7
	13 (雙賢)	5	0, 0, 0, 0, 6.3	1.3
	14 (義德)	1	100	100.0
	15 (集慶)	1	87.5	87.5
	16 (天福)	2	0, 50.0	25.0
	17 (天山)	2	56.3, 56.3	56.3
Wujie	1 (錦眾)	1	81.3	81.3
(五結)	2 (大吉)	1	100	100
	Total	81	Average	60.7

1. The percentage of samples positively detected with SLV infection. In the ELISA, grouped samples were comprised with 4 plants hierarchically collected from 16 quadrats within a sampling field.

病毒者僅爲0.2公斤，呈顯著差異；莖徑方面，無病毒者爲1.14公分，顯著比感染病毒者(0.79公分)粗，試驗中感染病毒者並無明顯病徵。

討 論

病害發生率(Disease incidence)的定義是受調查的全體樣本中罹病樣本所佔的比率，而罹病度(disease severity)是指樣本中病組織所佔的比率[(10)]。由於SLV初感染青蔥並未造成明顯病徵，判別植株是否感染需進一步檢測。本試驗利用ELISA可以偵測到SLV感染的蔥株每一分櫱與花薹均帶有病毒，此結果與前利用直接組織印漬分析(DTBIA)檢測SLV在蔥苗組織的分佈情形相似[(1)]。因SLV是系統性感染蔥株且均勻地分佈在植株各部，其罹病度等於1，未有採樣空間的歧異性(spatial heterogeneity)[(10)]發生，因此逢機摘取蔥株部份組織進行試驗分析，其結果即可充分代表整株植物的罹病情形。進行作疫情調查時亦可省略繁雜的個體採樣技術，而可以提高田間採樣效率。在取樣分析上，信賴度直接與樣品組數呈正相關，而與樣品組內之歧異性呈負相關[(10)]。考慮到田間採樣會有空間的歧異性問題，因此捨棄逢機取樣法，而將每一採樣田區系統性平均畫分成16個採樣點，每個採樣點進行封包採樣，取前後左右4蔥株的葉片，混合成一個檢體進行ELISA檢測。此種設計源自美國加州柑橘立枯病撲滅中心



圖三、三星鄉各村位置，有*者爲四季蔥病毒發生調查該村有零發生率之採樣田區。

Fig. 3. Location of villages in Sansing Township (no. 4 in figure 1) in which surveys were conducted. Numbers representing the villages are the same as those in table 3.
* Indicates one or more fields were assayed as 0% incidence of SLV.

表三、三星鄉無病毒檢出的四季蔥田經再檢測之分蔥潛隱病毒發生率

Table 3. Follow up survey of Shallot latent virus incidence on virus-free green onion fields in Sansing Township.

Location (Village)	grower	SLV incidence detected in February, 2000	May, 2001	June, 2002
1 (尾塹村) [1]	A (林添壽)	50.0	– [2]	–
7 (萬富村)	B (邱根旺)	16.7	–	100
9 (萬德村)	C (呂俊松)	100	–	0
	D (吳榮權)	0	–	0
12 (人和村)	E (林寬田)	0	–	25
	F (李阿月)	0	–	–
13 (雙賢村)	G (林居萬)	0	93.8	75
	H (張林海)	0	0	100
	I (張林輝)	33.4	–	25
	J (張林龍)	33.4	–	100
16 (天福村)	K (羅石定)	0	–	0

1. Village numbers are the same as those in table 2 and figure 3.
2. –：not tested

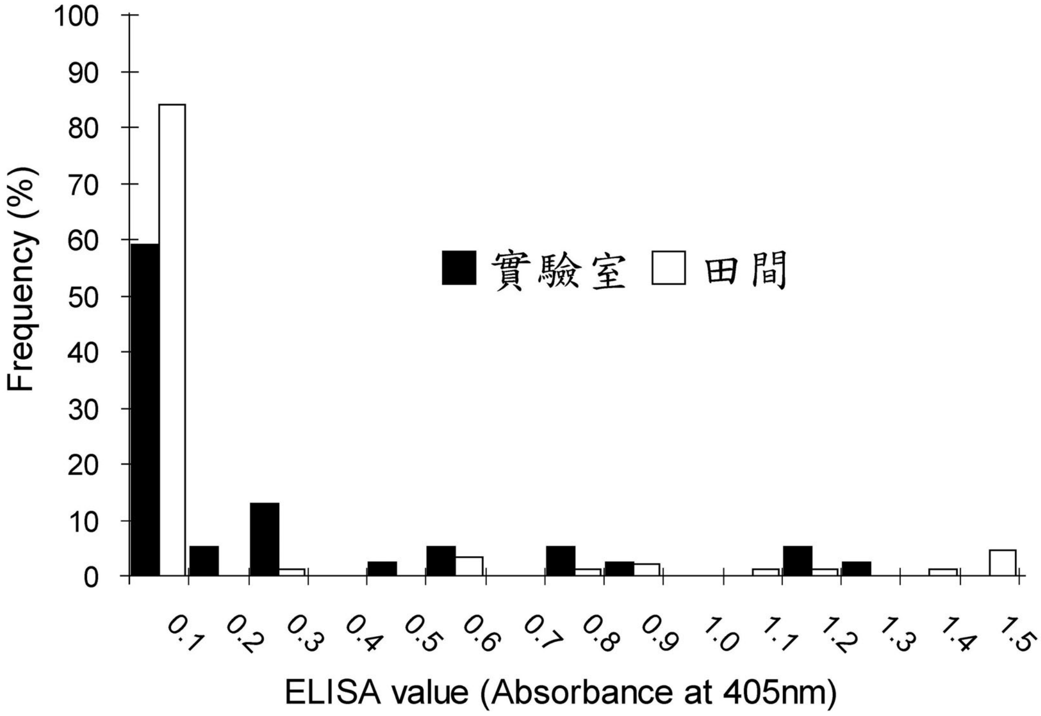
(The Central California Tristeza Eradication Agency, CCTEA) 檢測 *Citrus tristeza virus* 之方法 [6]，主要功能在測驗其受檢的取樣區爲零發生率的假設。本研究除調查發生率外，最終目的也是在尋找無病毒園區供作採種圃，因此沿用之。

分蔥潛隱病毒在宜蘭全縣四季蔥田發生率約爲 60.7%，但各取樣區的調查結果差異甚大，仍有 12 處取樣田區發生率爲零，但其後之追蹤調查僅存 2 區的四季蔥仍維持無病毒。此因露地栽培時四季蔥易遭病毒感染，或第一次調查時取樣數不夠導致的誤差都有可能，但是不同時期重複取樣結果仍是零發生率，其結果仍應可信賴。試驗中以未經病毒檢定的四季蔥母株切取莖頂組織作微體培養 (micropropagation)，其組培苗仍有 16 - 41% 並不能脫除 SLV，因這些材料並非經生長點培養 (meristem culture) 的植株，根據 Ohkoshi [12] 的報告唯有利用青蔥生長點附近 0.3 - 0.5 mm 的分生組織才能培育成功無病毒植株，在無法尋獲健康植株時，利用生長點組織培養可獲得無病毒植株 [1,12]。

經檢測爲 SLV-free 之組織培養苗移植於田間，二個半月後即有 21.4% 遭病毒感染，雖然病毒在植株體內濃度仍低，但分株繁殖後，因有初次感染源在內，病毒即可在蔥田迅速蔓延。四季蔥無病毒植株在田間之性狀，如株高、單株重及莖粗三方面均較 SLV 感染者高且差異顯著，明顯影響產量及品質。若要建立四季蔥健康種苗生產體系，可自田間採取園藝性狀優良且目視無病徵之四季蔥植株，經 ELISA 檢測無病毒後，直接切取基盤，進行微體培養，若檢測植株帶有病毒，則需挑取生長點培養成植株後，再切取基盤進行培養，大量繁殖無病毒植株，並進行大面積推廣更新栽培以降低蔥科作物病毒病之擴散。

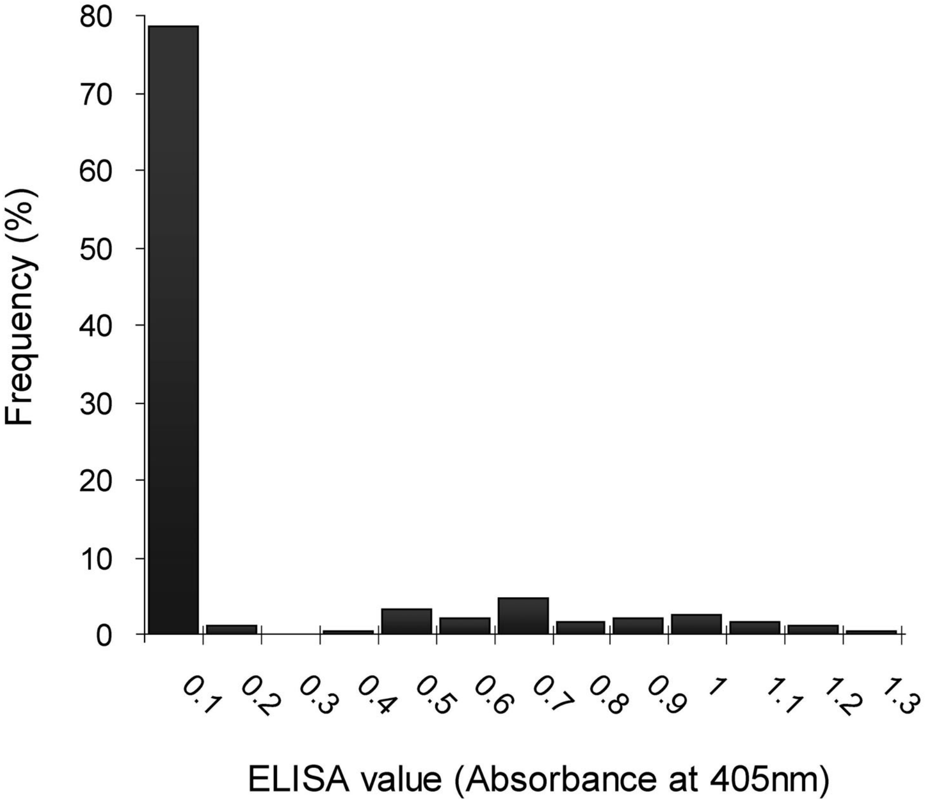
謝 辭

本研究承行政院農業委員會科技計畫經費補助，試驗期間承花蓮區農業改良場楊素絲助理研究員、陳定琳、邱



圖四、母株未經病毒檢定之組織培養苗田間及實驗室成株以ELISA檢測SLV之反應值頻率。

Fig. 4. Frequencies of ELISA values tested for SLV in plants of tissue culture derived green onion propagated from non-SLV-tested mother stock. (■: plants *in vitro*, □: plants in the field, ELISA values: +CK=0.559, -CK=0.022)



圖五、母株經ELISA篩檢定之無病毒組織培養苗移入田間二個半月後SLV之發生頻率。

Fig. 5. Frequencies of ELISA values tested for SLV in green onion plants derived from micropropagation of ELISA screened SLV-free mother stocks 75 days after transplanting into fields. (ELISA values: +CK=1.649, -CK=0.012)

表四、無病毒組織培養苗與SLV感染苗所育成四季蔥之園藝性狀比較

Table 4. Horticultural characters of virus-free and SLV-infected green onions

Seedling	Plant height (cm)	Length of blanched stem (cm)	Number of sprouts (shoots)	Plant weight (kg)	Stem diameter (cm)
Virus-free	70.50*	12.63	11.63	0.45*	1.14*
SLV-infected	62.25	12.50	10.38	0.20	0.79

* Data are significantly different from each other at p=0.05 level.
Experiment was a randomized complete design (RCD); data are means of 3 replicates with 90 observations.

松輝、陳榮漢、蔡錦村先生協助採樣及田間調查，農試所蔡錦惠、張惠美小姐協助進行ELISA 檢測，文成之後蒙中興大學園藝系張武男教授斧正，謹致謝忱。

引用文獻

1. 楊宏瑛、鄧汀欽、張武男. 2001. 四季蔥健康種苗快速繁殖技術 1.分蔥潛隱病毒檢測與無病毒新梢之誘導. 花蓮區農業改良場研究彙報 19:37-49。
2. 鄧汀欽、蔡淑娓、蔡財旺. 1991. 大蒜潛隱病毒在臺灣之發生及其生物特性. 中華農業研究40:333-345 。
3. Barg, E., Lesemann, D.-E., Vetten, H. J., and Green, S. K. 1994. Identification, partial characterization and distribution of viruses infecting Allium crops in south and southeast Asia. Acta Hortic. 358:251-258.
4. Barg, E., Lesemann, D.-E., Vetten, H. J., and Green, S. K. 1997. Viruses of Alliums and their distribution in different Allium crops and geographical regions. Acta Hortic. 433:607-616.
5. Diekmann, M. 1997. FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm No. 18. Allium spp. 62pp.
6. Hughes, G., and Gottwald, T. R. 1998. Survey method for assessment of citrus tristeza virus incidence. Phytopathology 88:715-723.
7. Hughes, G., and Gottwald, T. R. 1999. Survey methods for assessment of citrus tristeza virus incidence when *Toxoptera citricida* is the predominant vector. Phytopathology 89:487-494.
8. Hughes, G., Gottwald, T. R., and Levey, L. 2002. The use of hierarchical sampling in the surveillance program for *Plum pox virus* incidence in the United States. Plant Dis. 86:259-263.
9. Koenig, R. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 55:53-62.
10. Madden, L. V., and Hughes, G. 1999. Sampling for plant disease incidence. Phytopathology 89:1088-1103.
11. Morrison, R. H. 1999. Sampling in seed health testing. Phytopathology 89:1084-1087.
12. Ohkoshi, K. 1991. Production of virus-free plants by meristem culture - vegetables and ornamental plants. Tech. Bull. Food & Fertilizer Technology Center. 1991. No. 126, 1-9.
13. Sako, I., Takami, T., Nakasone, W., Osaki, T., and Inouye, T. 1994. Occurrence of garlic latent virus and onion yellow dwarf virus in seedless Welsh onion (cv. Bozushirazu) and influence of virus reinfection on their yield. Proc. Kansai Plant Protect. Soc. 36:21-27. (In Japanese)
14. Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Deng, T. C., Sako, I., and Sumi, S. 1998. Differentiation of Allium carlaviruses isolated from different parts of the world based on the viral coat protein sequence. Arch. Virol. 143:1093-1107.

ABSTRACT

Deng, T. C. [1], Liao, J. Y. [1], and Yang, H. Y. [2]. The incidence of *Shallot latent virus* and its effect on the growth of green onion in Yilan area. Plant Pathol. Bull. 12:191-198. ([1.] Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Wufong Township, Taichung County, Taiwan 413, R.O.C.; [2.] Corresponding author, E-mail: hdais033@mail.hdais.gov.tw, Lanyang Branch Station of Hualien District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Sansing Township, Yilan County, Taiwan 266, R.O.C.)

The distribution of *Shallot latent virus* (SLV) in infected plant of green onion was revealed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Regardless of the tissues sampled from leaves or inflorescence of infected plants, their ELISA values were significantly higher than those in healthy ones. Although the ELISA values in inflorescence tissues were higher than those in leaves in the same infected plant; the differences between tillers were not statistically significant. A total of 81 fields among Sansing, Yuanshan, Wujie, Jhuangwei, and Yilan in Yilan County were surveyed for SLV incidences. Each selected field was systematically divided into 16 sampling plots. Hierarchical sampling method was conducted and grouping test of ELISA was performed to index the incidence of SLV. From 1296 samples tested, the totally average incidence was 60.7%, including 63.7% (Sansing), 64.1% (Yuanshan), 90.7% (Wujie), 70.7% (Jhuangwei) and 33.3% (Yilan). Follow up surveys of SLV infection were conducted in 2001-2002 in 12 fields, which were found with 0% SLV incidences. The result showed that only 2 fields were confirmed maintaining 0% SLV infection and they were thus selected as healthy seedling nurseries. Sixteen to 41% of SLV incidences were found in tissue culture derived green onion plants propagated from non-SLV-tested mother stock, while only 21.6% of incidence was detected in those plants propagated from ELISA screened SLV-free mother stocks 75 days after transplanting into fields. The yield trial in Sansing showed that the growth of healthy plants were significantly better than SLV infected ones in plant height, plant weight, and stem diameter at p=0.05 level.

Key words: green onion, *Shallot latent virus*, ELISA, incidence, hierarchical sampling, seedling